*Труды Зоологического института РАН*
*Том 323, № 4, 2019, с. 506–522*
*10.31610/trudyzin/2019.323.4.506*



*УДК 597.442.591.111/428.4*

# Реакция осморегуляторной системы стерляди *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 (Acipenseridae) на воздействие гиперосмотической среды

**Л.С. Краюшкина[1]* и О.Г. Семёнова[2]**

[1]*Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 7/9, 199034 Санкт-Петербург, Россия; e-mail: krayushkina@mail.ru*

[2]*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, наб. Макарова 6, 199034 Санкт-Петербург, Россия*

**РЕЗЮМЕ**

Изучены особенности реакции осморегуляторной системы пресноводного вида осетровых реки Волга (стерляди *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) на воздействие гиперосмотической среды (искусственной морской воды) солёностью 12.5–2.7‰ (403–409 мосм/л). Прослежены морфофункциональные изменения некоторых элементов комплекса органов, ответственного за осуществление процесса осморегуляции. Через 72 ч после перевода неполовозрелых особей стерляди в возрасте 2+ в гиперосмотическую среду из пресной воды осмолярность сыворотки крови становится изоосмотичной внешней среде. Интерреналовая железа на солевое воздействие отвечает повышением концентрации кортизола в сыворотке крови, высокий уровень которого (75.13 ± 12.96 против 19.29 ± 6.36 нг/мл в контроле) сохраняется в течение всего опыта (7 сут.), что указывает на стрессорное состояние рыб. Выведение кортизола в кровяное русло не сопровождается повышением активности транспортного фермента $Na^+/K^+$ АТФ-азы в гомогенате жабр и увеличением концентрации $Na^+$ непосредственно в хлоридных клетках, определяемой при использовании А-голд техники. Ультраструктура хлоридных клеток, являющихся главным местом выведения и сорбции одновалентных ионов ($Na^+$, $K^+$, $Cl^-$) у рыб, у стерляди не характеризуется чертами активного экскреторного состояния. Таким образом, кортизол не оказывает стимулирующего действия на повышение активности фермента $Na^+/K^+$ АТФ-азы в жабрах, необходимого для транспорта избытка ионов из организма. Щитовидная железа отвечает увеличением концентрации тироксина ($T_4$) в сыворотке крови в течение 3–6 ч солевого воздействия. В дальнейшие 114 ч происходит снижение концентрации гормона до исходного уровня (в контроле). Динамика концентрации тироксина в сыворотке крови не сопряжена с динамикой осмолярности сыворотки крови. Возможно заключить, что между эффекторным «органом», каким является совокупность многочисленных хлоридных клеток жаберного эпителия, и эндокринными железами (интерреналовая и щитовидная), находящимися под контролем гормонов тропных клеток гипофиза, отсутствует функциональная связь. У стерляди в гиперосмотической среде в почке сохраняется более высокая активность фермента $Na^+/K^+$ АТФ-азы, чем в жабрах. Высокая концентрация $Na^+$ в моче (163.2 ± 5.3 мэкв/л), близкая к концентрации этого катиона в гиперосмотической среде, высокая доля $Na^+$ (87.1 ± 0.1%) в суммарной концентрации основных катионов в моче, низкий уровень сорбции воды (50.8 ± 4.0%) в почечных канальцах, высокий диурез (0.58 ± 0.09, мл/час/100 г массы тела) обусловливают высокий уровень выведения $Na^+$ с мочой (94.66 ± 3.50 мэкв/мл/час/100 г массы тела). Существенная роль почки в выведении избытка $Na^+$ в гиперосмотических условиях среды лежит в основе стратегии осмоконформности стерляди.

**Ключевые слова**: жабры, интерреналовая и щитовидная железы, кишечная жидкость, моча, осетровые, осмолярность, почки, сыворотка крови

* *Автор-корреспондент / Corresponding author*

# Reaction of osmoregulatory system of sterlet *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 (Acipenseridae) on influence of hyperosmotic medium

**L.S. Krayushkina[1]* and O.G. Semenova[2]**

[1]*Saint Petersburg State University, Universitetskaya Emb. 7/9, 199034 Saint Petersburg, Russia; e-mail: krayushkina@mail.ru*

[2]*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Makarov Emb.6, 199034 Saint Petersburg, Russia*

**ABSTRACT**

Some features of response to hyperosmotic environment (artificial sea water with a salinity of 12.5–12.7 ‰ (403–409 mosm/l) were studied in the osmoregulatory system of freshwater sturgeon species from the Volga river, sterlet *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758. Morphofunctional changes were traced in certain elements of the organ complex responsible for the osmoregulatory process. 72 hours after the immature sterlet individuals (age 2+) were transferred from fresh water to the hyperosmotic medium, blood serum osmolarity becomes iso-osmotic respective to the external environment. The interrenal gland responds to saline exposure by increasing cortisol concentration in the blood serum. A high cortisol level (75.13 ± 12.96 vs. 19.29 ± 6.36 ng/ml in the control group) persists throughout the entire experimental period (7 days), which indicates that fishes are under stress. The cortisol excretion into the bloodstream is not followed by an increased activity of the transport enzyme, $Na^+/K^+$ ATPase, in homogenate of the gills and an increased $Na^+$ concentration in chloride cells, was identified by A-gold technique. The ultrastructure of chloride cells, being the main site for the removal and sorption of monovalent ions ($Na^+$, $K^+$, $Cl^-$) in fishes, does not display the characteristic of an active excretion in sterlet. Thus, cortisol does not provide a stimulating effect on increasing $Na^+/K^+$ ATPase activity, an enzyme needed to transport excess ions from the body. The thyroid gland responds by increasing the thyroxin ($T_4$) concentration during 3–6 hours of saline exposure. In the next 114 hours, the concentration of this hormone decreases to its initial level (in the control group). The thyroxin dynamics in serum does not correlate with the dynamics of serum osmolarity. So it seems possible to conclude that no functional relationship exists between the effector “organ” (the set of numerous chloride cells of the gills epithelium) and the endocrine glands (interrenal and thyroid) controlled by the hormones of tropic pituitary cells. In sterlet dwelling in hyperosmotic medium the kidney keeps a higher $Na^+/K^+$ ATPase activity, as compared with the gills. High $Na^+$ concentration in the urine (163.2 ± 5.3 meq/l), close to its concentration in the hyperosmotic environment, high $Na^+$ proportion (87.1 ± 0.1%) in the total concentration of major urinary cations, low level of water sorption (50.8 ± 4.0%) in the renal tubules, high diuresis (0.58 ± 0.09, ml/hr/100 g body weight) determine high level of $Na^+$ excretion in the urine (100.95 ± 13.21 meq/ml/hr /100 g body weight). The important role of the kidney in removing $Na^+$ excess under hyperosmotic environment underlies the osmoconformity strategy in sterlet.

**Key words:** gills, interrenal and thyroid gland, intestinal fluid, urine, kidneys, acipenserids, osmolarity, blood serum

## ВВЕДЕНИЕ

Семейство осетровых Acipenseridae, включающее 25 видов (Eschmeyer 2019), имеет широкое распространение в Северном полушарии в водах различной солёности – пресных, солоноватых и океанических. Оно представлено 4 родами: род *Scaphirhynchus* включает 3 вида, являющихся пресноводными эндемиками Северной Америки, в основном бассейнов рек Миссисипи, Рио-Гранде и Алабама; в состав рода *Pseudoscaphirhynchus* входят 3 вида, которые являются пресноводными эндемиками рек Средней Азии: Аму-Дарья и Сыр-Дарья; род *Huso* включает 2 вида, из которых один вид – *H. dauricus* (Georgi, 1775) – относится к пресноводным рыбам реки Амур (несмотря на случаи выхода калуги в открытое море с высокой солёностью), а второй – *H. huso* (Linnnaeus, 1758) – является анадромным преимущественно солоноватоводным (иногда морским) видом, распространённым в бассейнах Каспийского, Черного, Азовского морей, а также в восточной части Средиземного моря; наиболее многочисленный род *Acipenser* включает 17 видов, среди

которых имеются пресноводные (4 видов), анадромные солоноватоводные (4 видов) и анадромные морские (9 видов).

Анадромные виды во взрослом состоянии большую часть жизни проводят в морских условиях, но для нереста заходят в реки. При совершении регулярных миграций «река→море→река» анадромные виды осетровых (русский осётр *A. gueldenstaedtii* Brandt et Ratzeburg, 1833; севрюга *A. stellatus* Pallas, 1771; белуга *Huso huso* (Linnaeus, 1758); коротконосый осетр *A. brevirostrum* Lesueur, 1818; атлантический осетр A. *oxyrhynchus* Mitchill, 1815) меняют тип осмотической регуляции (гиперосмотический в пресной воде и гипоосмотический в морской среде), обеспечивая тем самым осмотический гомеостаз при смене среды обитания (Krayushkina 2006; Krayushkina and Semenova 2006; Krayushkina 1998).

Смена типа осморегуляции у осетровых происходит в результате существенной функциональной перестройки системы органов, ответственной за поддержание осмотического гомеостаза (Krayushkina et al. 2015; Krayushkina et al. 2016; Semenova et al. 2018). Основную функциональную нагрузку в осуществлении осмотической регуляции несёт комплекс органов гипоталамо – гипофизарной – интерреналовой оси, который контролирует и стимулирует работу эффекторных органов – хлоридных клеток жаберного эпителия, почек, кишечника. Анализ этих изменений при переводе неполовозрелых особей волго-каспийского вида севрюги *A. stellatus* из пресной воды в гиперосмотическую среду (искусственную морскую воду, сходную по составу и соотношению солей с каспийской водой средней солёности 12.5 ‰), показал, что на солевое воздействие первыми отвечают нейросекреторные и эндокринные органы. Через 1 ч после перевода происходит выведение нейрофизин-иммунопозитивных (НФ-ИП) гранул (белкового носителя аргинин-вазотоцина) из перикарионов нейросекреторных клеток (НСК) преоптического ядра в аксоны и адренокортикотропин- иммунопозитивных (АКТГ)-ИП гранул из НСК туберального ядра гипоталамуса в аксоны, направляющиеся к зоне *median eminence*, переднему нейрогемальному району гипоталамогипофизарной нейросекреторной системы (ГГНС), и к гипофизу. Выведение АКТГ из (АКТГ)-ИП клеток проаденогипофиза и соматотропина из НСК мезоаденогипофиза отмечается через 1 ч и в последующее время экспозиции рыб в гиперосмотической среде. Интерреналовая железа, которая находится под контролем АКТГ гипофиза, через 1 ч после перевода рыб в гиперосмотическую среду отвечает повышением синтетической активности и накоплением предшественников стероидных гормонов в клетках, а затем началом выведения этих гормонов через 24–72 ч после перевода рыб в гиперосмотическую среду. Действие стероидных гормонов, в основном кортизола у рыб, направлено на повышение активности $Na^+/K^+$ АТФ-азы – транспортного фермента в хлоридных клетках жаберного эпителия, совокупность которых является основным «органом» выведения избытка одновалентных ионов $Na^+$ и $K^+$. Снижение концентрации $T_4$ в сыворотке крови, свидетельствующее о потреблении гормона щитовидной железы органами-мишенями, отмечается также через 1 ч после перевода севрюги в гиперосмотическую среду и продолжается в течение 3 сут. опыта. В дальнейшем уровень $T_4$ повышается, и на 7 сут. опыта он не отличается от контрольного значения. Щитовидная железа приходит в умеренно активное состояние.

Повышение функциональной активности органов нейроэндокринной и эндокринной систем стимулирует морфофункциональные изменения эффекторных органов, направленные на выполнение гипоосмотической регуляции. Изменяется тонкая структура хлоридных клеток в связи с их переходом к экскреторной функции – выведению избытка одновалентных ионов. Отмечено повышение активности транспортного фермента $Na^+/K^+$ АТФ-азы в гомогенатах жабр и в самих хлоридных клетках через 12 ч и в последующее время экспозиции рыб в гиперосмотической среде. В почках уменьшаются размеры гломерул, уменьшается клубочковая фильтрация, увеличивается реабсорбция воды из мочи в почечных канальцах, что в целом приводит к снижению уровня диуреза, направленного на сохранение воды в организме и регуляцию водного баланса в организме.

В период перестройки происходит поднятие осмолярности сыворотки крови вследствие дегидратации организма в новых условиях осмотического градиента. После осуществления

функциональной перестройки отмечаемого комплекса начинается гипоосмотическая регуляция, в результате которой происходит снижение поднявшейся осмолярности и поддержание ее на относительно постоянном уровне. Таким образом, процесс перестройки комплекса органов для выполнения им гипоосмотической регуляции обуславливает двухфазность в изменении уровня осмолярности сыворотки крови при адаптации анадромных видов осетровых к гиперосмотической среде.

Пресноводные виды рода *Acipenser* (стерлядь *A. ruthenus* Linnaeus, 1758 волго-каспийской популяции; сибирский осетр байкальской и ленской популяций *A. baerii* Brandt, 1869) демонстрируют высокую солевую толерантность, поскольку выживают в искусственной морской среде солёностью 12.5‰ после их перевода из пресной воды так же, как анадромные виды волго-каспийского бассейна. Однако в отличие от них, поддерживающих осмотический гомеостаз при изменении солёности воды, пресноводные виды в воде этой солёности становятся изоосмотичными среде обитания, так как осмолярность сыворотки крови непрестанно возрастает и через 24–72 ч достигает осмолярности среды обитания. (Краюшкина и Моисеенко [Krayushkina and Moiseenko] 1977a, b); Krayushkina and Semenova 2006). Такие виды приспосабливаются к гиперосмотической среде как осмоконформеры.

В связи с этим возникает вопрос, какие морфофункциональные изменения в комплексе органов, ответственных за осмотическую регуляцию, происходят у пресноводных видов в ответ на воздействие гиперосмотической среды, и как эти изменения отличаются от изменений в аналогичном комплексе у вышеупомянутых анадромных видов рода *Acipenser*? Чем можно объяснить осмоконформность пресноводных видов осетровых?

В связи с поставленными вопросами цель настоящего исследования – выявить особенности морфофизиологических изменений элементов осморегуляторной системы пресноводного вида осетровых, стерляди *A. ruthenus*, при воздействии на неё гиперосмотической среды и ответить на поставленные выше вопросы.

Стерлядь совершает регулярные миграции в реке. Однако в реке Волга ранее различали две формы стерляди: типичную жилую форму в Средней и Верхней Волге и полупроходную – в Нижней Волге (Лукин [Lukin] 1947; Борзенко [Borzenko] 1951). В более позднее время также подтверждалось наличие полупроходной формы стерляди, отличающейся от туводной не только по экологии, но также по более быстрому темпу роста и морфологическим показателям (Соколов и Цепкин [Sokolov and Tsepkin] 1971). Особо следует отметить, что стерлядь выходила за пределы дельты не далее изобаты в 5–6 м и обитала при солености 1.2–7.7‰ (38.6–248.1 мосм/л) (Белогуров [Belogurov] 1937), т. е. в среде, осмолярность которой была ниже осмолярности сыворотки крови этого вида в пресноводных условиях. Стерлядь нерестилась выше дельты, и мальки мигрировали в северную опресненную часть моря. Осенью сеголетки возвращались обратно в дельту. В настоящее время полупроходная популяция стерляди отсутствует. Широкое распространение стерляди во всех реках, а также регулярные миграции ее в реке дали основание сделать вывод о недавнем переходе стерляди от проходного образа жизни к пресноводной жизни (Шмидт [Shmidt] 1947). Такое же заключение было сделано на основании изучения объемов ядер и цитоплазмы в ооцитах осетровых (Садов [Sadov] 1957).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Место и условия проведения опыта

Для исследования осморегуляции стерляди *Acipenser ruthenus* были использованы неполовозрелые особи средневолжской популяции этого вида, выведенные и выращенные в научно-производственном центре «БИОС» (Астраханская обл., Икрянинский р-н, дельта реки Волга). Экспериментальная работа была проведена на Бертюльском осетроводном заводе, расположенном в том же районе. Молодь из «БИОС» на завод перевозили в специальных контейнерах в течение 45–60 мин. На заводе рыб содержали в проточных пластиковых бассейнах (из расчета 6 рыб на 700 л воды), установленных в рыбоводном цехе с кондиционерами, поддерживающими постоянную оптимальную температуру воздуха (18.5–19 °C). Температура воды в соответствии с температурным режимом помещения также

поддерживалась в этих пределах. Перед началом опытов рыб переводили в замкнутые бассейны с пресной водой, где они оставались в течение 3 суток. Затем их переводили из пресной воды в замкнутые бассейны с искусственной морской водой солёностью 12.5‰, по составу и соотношению солей близкой к средней солёности Каспийского моря (Бруевич [Bruevich] 1937; Пахомова и Затучная [Pakhomova and Zatuchnaya] 1966). Оптимальный кислородный режим в замкнутых бассейнах поддерживали с помощью постоянной аэрации воды компрессором и путем замены в бассейне 30% объема воды каждые 2 суток. Азотистые соединения, образующиеся в результате жизнедеятельности рыб, удаляли при фильтрации воды через внешние фильтры (Eheim, Германия), содержащие силикон. Таким образом, в экспериментальный периоды поддерживали оптимальные условия (содержание кислорода 6–7 мг $O_2$/л, показатель водородных ионов pH 7–8, температура воды 18–19 °С, содержание нитритов $NO_2$ 0.001 – 0.0005мг%, аммиака $NH_3$ – 0.1мг%).

### Проведение опыта

Сбор проб для анализов проводили через различные промежутки времени (см. Табл. 4 и Fig. 1) после перевода рыб в морскую (гиперосмотическую) среду. Пробы крови (около 5 мл) отбирали шприцем из хвостовой вены и помещали в центрифужные пробирки. После коагуляции кровь центрифугировали на микроцентрифуге (20 мин, 800 об/мин) и отбирали надосадочную жидкость – сыворотку. Часть цельной сыворотки (около 2 мл) переносили в криопробирки, которые помещали в морозильную камеру, где пробы хранили при температуре –80 °С до момента определения концентрации гормонов (кортизола, тироксина). Оставшуюся часть сыворотки сразу же использовали для определения ее осмолярности криоскопическим методом. Пробы мочи собирали с помощью введенного в мочеполовое отверстие эластичного пластикового катетера, на другом конце которого был укреплён небольшой резиновый мешочек. Катетер в теле рыбы укрепляли путём наложения лигатуры на мочеполовое отверстие. Сбор мочи проводили в течение 1.5–3.0 ч в зависимости от среды обитания рыб. Кишечную жидкость из полости спирального клапана собирали с помощью эластичной пластиковой трубки, введённой в анальное отверстие. Часть проб сыворотки крови, мочи и жидкости из кишечника разводили дистиллированной водой (1:100) для дальнейшего определения в них концентрации катионов. Пробы жабр и почек замораживали при температуре –80 °С и –18 °С для дальнейшего определения активности фермента $Na^+/K^+$ АТФ-азы в гомогенатах этих органов. Фрагменты почек вместе с тельцами интерреналовой железы фиксировали в жидкости Буэна и/или в растворе по Мевесу для оценки динамики морфофункционального состояния анализируемых органов в условиях смены солёности среды обитания рыб, используя гистологические и морфометрические критерии анализа. Для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) жабры фиксировали в течение 24 ч при температуре 4°С в модифицированной жидкости Карновского (Karnovsky 1965): смесь 2%-ного параформальдегида и 2%-ного глутаральдегида в 0.15 М растворе фосфатного буфера (pH 7.2) с постфиксацией в течение 2 ч в 1%-ном растворе $OsO_4$ на фосфатном буфере. После промывки в фосфатном буфере образцы дегидратировали в серии спиртов возрастающей концентрации и ацетоне, затем заключали в эпоксидную смолу Эпон – 812.

### Использованные методики для обработки проб

Для определения осмолярности анализируемых сред использовали миллиосмометр ОСКР-1 (Россия). Концентрацию $Na^+$ и $K^+$ определяли при использовании пламенного фотометра "Flapho-4" (Германия), $Ca^{2+}$ и $Mg^{2+}$ – с помощью атомного абсорбционного спектрофотометра "AAS-4" (Германия).

Срезы жабр (для электронной микроскопии) приготавливали на ультратоме Рейхерта (Reichert Ultracut E) корундовым ножом. Полутонкие срезы (0.6 мкм) жабр окрашивали метиленовым голубым в 1%-ном растворе буры и анализировали под световым микроскопом. Ультратонкие срезы жабр контрастировали цитратом свинца и уранил ацетатом в соответствии с методом E.S. Reynolds (1963), за-

тем анализировали под ТЭМ “Zeiss – EM900” (Germany). Гистологическую обработку проб проводили по обычной методике (Ромейс [Romeis] 1953). Для характеристики изменений морфофункционального состояния интерреналовой железы использовали площадь клеток с целью оценки уровня накопления и выведения липофильных предшественников стероидных гормонов. Среднюю площадь клеток интерреналовой железы определяли путём деления произвольно выбранной площади железы (1400$\mu^2$) на количество ядер, которые располагаются на этой площади.

Содержание кортизола в сыворотке крови определяли с помощью процедуры энзимосвязывающего иммуносорбционного анализа (ELISE) при использовании коммерческого набора реактивов производства ООО «Алкор Био» (Санкт-Петербург), приготовленных для работы с осетровыми (Semenkova et al. 2002).

Функцию щитовидной железы оценивали по динамике концентрации $T_4$ в сыворотке крови, которую определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа при использовании реактивов производства фирмы ООО «Алкор Био» (Санкт-Петербург).

Активность $Na^+/K^+$ АТФ-азы в гомогенатах жабр и почек определяли с помощью метода Заугга (Zaugg 1982).

Количественную оценку содержания $Na^+$ непосредственно в самих хлоридных клетках проводили по протеин А-голд технике для электронно-микроскопических исследований (Roth et al. 1978) с использованием антител против $Na^+$ на ультратонких среза жаберных лепестков. Подсчёт голд-меток, включённых в хлоридные клетки, проводили на условной площади фотоснимков клетки (размером 6 × 6 см), сделанных при просмотре ультрасрезов под электронным микроскопом при увеличении в 7000 раз.

Транспортную функцию почки определяли по уровню клубочковой фильтрации, измеряемому традиционным инулиновым методом (Бахтеева и Наточин [Bakhteeva and Natochin] 1976).

Результаты исследования обрабатывали статистически по общепринятым методикам (Урбах [Urbakh] 1964). Для сравнительного анализа использовали тест Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В опыте были использованы неполовозрелые особи стерляди *A. ruthenus* Linnaeus, 1758 двух размерно-весовых групп в возрасте 2+ (1-ая группа рыб: длина 49.6 ± 0.3 см, масса 493.2 ± 10.6 г; 2-ая группа рыб: длина 39 ± 0.6 см, масса 393 ± 10.3 г). (Здесь и далее указана полная длина рыб).

**Динамика осмолярности и концентрации катионов сыворотки крови.** После перевода стерляди (длина 49.6 ± 0.3 см, масса 493.2 ± 10.6 г) из пресной воды в гиперосмотическую среду солёностью 12.5‰ (403 мосм/л) осмолярность сыворотки крови постоянно возрастает. Уже через 1 ч после начала солевого воздействия она увеличивается ($p < 0.01$) до 271.0 ± 4.0 мосм/л сравнительно с величиной этого параметра (253.3 ± 1.5 мосм/л) у контрольных рыб в пресной воде. На 3-и сутки осмолярность сыворотки крови достигает осмолярности среды обитания ($p > 0.05$), и этот уровень сохраняется в течение последующих трех суток (415.2 ± 3.5). Осмолярность сыворотки крови становится на 161.9 мосм/л больше первоначального уровня (у рыб в пресной воде) (Рис. 1). Таким образом, динамика осмолярности сыворотки крови в период пребывания стерляди в морской среде свидетельствует о том, что стерлядь не способна поддерживать относительное постоянство этого параметра при смене солености среды обитания. Стерлядь приспосабливается к гиперосмотической среде как осмоконформер.

В течение 7 суток после перевода рыб в гиперосмотическую среду солёностью 12.7‰ (409 мосм/л) происходит повышение концентрации ионов в сыворотке крови, в результате чего осмолярность сыворотки крови увеличивается на 55.8%, и стерлядь становится изоосмотичной среде обитания ($p > 0.05$) (410.7 ± 4.0) (Табл. 1) так же как этот процесс наблюдался в предыдущем опыте (Рис. 1). Концентрация $Na^+$ в сыворотке крови у рыб после 7 суток пребывания их в гиперосмотической среде оказывается больше, чем во внешней среде ($p < 0.05$) (Табл. 1). Общая концентрация основных катионов ($Na^+$, $K^+$, $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$) в сыворотке крови увеличивается ($p < 0.001$) до 211. ± 2.8 мэкв/л (против 119.6 ± 0.8 мэкв/л у рыб в пресной воде). Несмотря на эти изменения, процентное содержание в ней

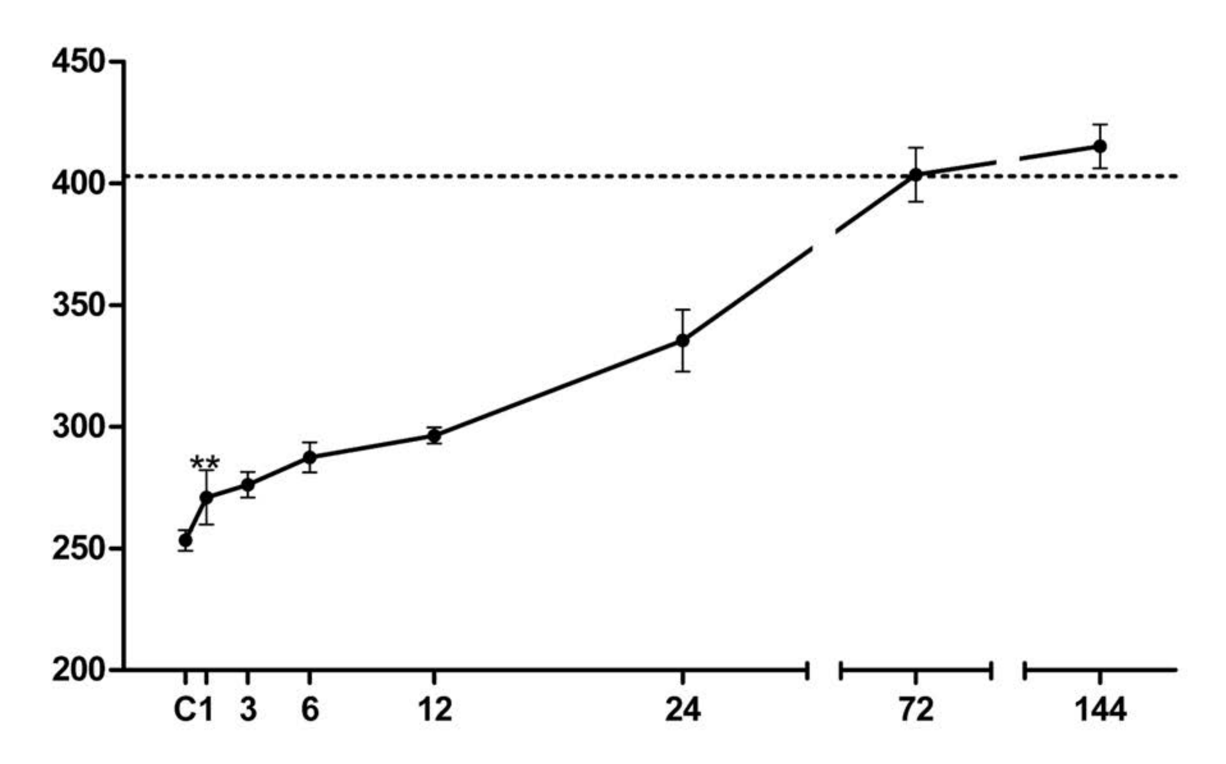



**Рис. 1.** Динамика осмолярности сыворотки крови (мосм/л) стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 49.6 ± 0.3 см, масса 493.2 ± 10.6 г) в период воздействия гиперосмотической среды соленостью 12.5‰ (403 мосм/л). *Сплошная линия* – осмолярность сыворотки крови, *вертикальные линии* (I) – 95% доверительные интервалы средней; *горизонтальная пунктирная линия* – уровень осмолярности среды. Различие достоверно при: $p^{**} < 0.01$ сравнительно с контролем – С (в пресной воде). По оси *x* – продолжительность солевого воздействия (ч); С – контроль (в пресной воде); по оси *y* – осмолярность (мосм/л).

**Fig. 1.** Dynamics of the blood serum osmolarity (mosm/l) of sterlet *Acipenser ruthenus* (age 2+, length 49.6 ± 0.3 cm, weight 493.2 ± 10.6 g) during influence of hyperosmotic medium 12.5‰ salinity (403mosm/l). *Unbroken line* – the osmolarity of the blood serum; *vertical line* (I) – the 95% confidence interval for the mean of the osmolarity; *horizontal dotted line* – the osmolarity of the medium; differences are significant: $p^{**} < 0.01$ in comparison with control – C (in fresh water). *x* – period of influence of hyperosmotic medium, h; *y* – the osmolarity, mosm/l.

$Na^+$, $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$ сохраняется таким же ($p > 0.05$), каким оно было у рыб в пресной воде, но содержание $K^+$ уменьшается (Табл. 2).

Известно, что анадромные виды костистых рыб способны регулировать относительное постоянство осмолярности сыворотки крови при изменении солености воды. Потерю воды в результате изменения концентрационного градиента при переходе в гиперосмотическую среду из пресной воды они восполняют за счёт заглатывания воды. В кишечнике происходит реабсорбция воды вместе с ионами, в основном с одновалентными ($Na^+$, $K^+$, $Cl^–$), избытки которых затем выводятся через жабры и почки. Избыток двухвалентные ионов выводятся, в основном почками и через кишечник. У стерляди, переведенной в гиперосмотическую среду, заглатывание воды визуально не было отмечено, и извлечь пробы жидкости из спирального клапана удавалось с большим трудом. Можно было бы полагать, что заглатывание морской воды происходит, видимо, в очень небольших объемах, но это предположение не согласуется с высоким уровнем диуреза в этот период (Табл. 3). По всей видимости, заглатываемая вода быстро реабсорбируется из кишечника в кровь, откуда она вместе с ионами попадает в почку, продуцирующую мочу с высоким содержанием натрия. У стерляди, адаптированной к гиперосмотической среде в течение 7 суток, ки-

**Таблица 1**. Осмолярность и концентрация катионов сыворотки крови, мочи и кишечной жидкости у стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 39 ± 0.6 см, масса 393 ± 10.3 г) в пресной воде и после экспозиции в гиперосмотической среде 12.7‰ (409 мосм/л). M ± s.e.

**Table 1.** Osmolarity and cation concentration in the blood serum, the urine, and the intestinal liquid in starlet *A. ruthenus* (age 2+ yr, length 39 ± 0.6 cm, weight 393 ± 10.3 g) in fresh water and after exposition in hyperosmotic environment with salinity 12.7‰. M ± s.e.

| Период экспозиции, ч<br>Time of exposition, h | Осмолярность, мосм/л<br>Osmolarity, mosm/l | Концентрация ионов, мэкв/л<br>Cation concentration, meq/l | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $Na^+$ | $K^+$ | $Ca^{2+}$ | $Mg^{2+}$ |
| Сыворотка крови<br>Blood serum | | | | | |
| Контроль (в пресной воде) | 263.6 ± 1.2 | 113.6 ± 0.4 | 1.68 ± 0.20 | 3.20 ± 0.12 | 1.16 ± 0.32 |
| 12.7‰, 168 ч/h | 410.7 ± 4.0 *** | 200.3 ± 4.4 *** | 2.00 ± 0.15 | 5.40 ± 0.53*** | 3.48 ± 0.66** |
| Моча<br>Urine | | | | | |
| Контроль (в пресной воде) | 50.3 ± 2.7 | 17.2 ± 1.3 | 0.70 ± 0.21 | 0.72 ± 0.19 | 0.66 ± 0.15 |
| 12.7‰, 168 ч/h | 398.8 ± 7.4*** | 163.2 ± 5.3*** | 3.38 ± 0.23*** | 8.80 ± 0.57*** | 12.00 ± 1.41*** |
| Кишечная жидкость<br>Intestinal liquid | | | | | |
| 12.7‰, 12 ч/h | 333.0 ± 7.1 | 130.0 ± 2.7 | 1.52 ± 0.11 | 22.35 ± 2.79 | 63.00 ± 5.20 |
| 12.7‰, 168 ч/h | 416.5 ± 3.5 | 146.7 ± 5.4*** | 1.63 ± 0.18** | 28.80 ± 5.91 | 124.00 ± 48.04 |
| Гиперосмотическая среда 12.7‰<br>Hyperosmotic environment 12.7‰ | | | | | |
| | 409 ± 2 | 178.2 ± 2.0 | 2.53 ± 0.04 | 20.23 ± 0.75 | 65.0 ± 2.03 |

*Примечание*: M ± s.e. – среднее значение и его стандартная ошибка; различия достоверны при *p:* ** – <0.01; *** – <0.001 – по сравнению с контролем (в пресной воде) для сыворотки крови и мочи; по сравнению с гиперосмотической средой для кишечной жидкости. Количество рыб в контроле – 5, в каждом варианте опыта – 6.

*Note*: M ± s.e. – mean value and standard error; differences are significant: *p:* ** – <0.01; *** – <0.001 – in comparison with control (in fresh water) for the blood serum and the urine, but in comparison with hyperosmotic environment for the intestinal liquid. Number of fish in control (in fresh water) – 5, in experiment – 6.

шечная жидкость по своему составу отличается от заглоченной воды более низким содержанием $Na^+$ и $K^+$. Достоверных различий в уровне $Mg^{2+}$ сравнительно с его содержанием в морской воде не обнаружено, вероятно, в связи со значительными колебаниями этого параметра у исследованных особей. В целом кишечная жидкость оказывается изоосмотичной ($p > 0.05$) морской воде и сыворотке крови (Табл. 1).

**Функциональное состояние почек при солевом воздействии.** В пресноводных условиях стерлядь характеризуется высоким уровнем выведения гипоосмотичной (по отношению к сыворотке крови) мочи (1.13 ± 0.09 мл/час/100 г массы). После перевода ее в гиперосмотическую среду к 7 суткам солевого воздействия диурез достоверно сокращается ($p < 0.001$) на 48.7% вследствие сокращения ($p < 0.05$) клубочковой фильтрации на 33.3% при сокращении ($p < 0.001$) размера гломерул (Табл. 3). Высокому диурезу стерляди в морской среде (0.58 ± 0.09 мл/час/100г массы тела) способствует более низкий уровень реабсорбции воды в проксимальном сегменте (50.8 ± 4.0 %), чем у анадромных солоноватоводных видов (соответственно, для севрюги 0.17 ± 0.04 мл/час/100г массы тела и 83%, по нашим неопубликованным данным). У стерляди при высокой концентрации катионов в моче и при сравнительно высоком диурезе в условиях гиперосмотической среды с мочой выводится значительный избыток одновалентных ионов ($Na^+$ – 94.66 ± 3.50 против 15.30 ± 1.70 мэкв/л/час/100г массы тела у севрюги).

**Таблица 2**. Суммарная концентрация (Σ) основных катионов и их процентное соотношение в сыворотке крови и моче у стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 39 ± 0.6 см, масса 393 ± 10.3 г) в пресной воде и после экспозиции в гиперосмотической среде солёностью 12.7‰ (409 мосм/л) в течение 168 ч. M ± s.e.

**Table 2.** Summary concentration (Σ) of the main cations and their ratio in the blood serum and the urine in starlet *A. ruthenus* (age 2+ yr, length 39 ± 0.6 cm, weight 393 ± 10.3 g) in fresh water and after exposition in hyperosmotic environment with salinity 12.7‰ (409 mosm/l) during 168 h. M ± s.e.

| Внутренняя среда<br>Internal medium | Σ, мэкв/л<br>Σ, meq/l | Соотношение, %<br>Cation concentrations, % | | | | n |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $Na^+$ | $K^+$ | $Ca^{2+}$ | $Mg^{2+}$ | |
| Сыворотка крови<br>Blood serum | 119.6 ± 0.8<br>211.2 ± 2.8*** | 94.95 ± 0.70<br>94.85± 0.80 | 1.40 ± 0.07<br>0.95 ± 0.06*** | 2.67 ± 0.16<br>2.56 ± 0.33 | 0.97 ± 0.40<br>1.65 ± 0.57 | 5<br>6 |
| Моча<br>Urine | 19.3 ± 0.6<br>187.4 ± 6.3*** | 89.21 ± 1.10<br>87.10 ± 0.10 | 3.63 ± 0.65<br>1.80 ± 0.09* | 3.74 ± 0.78<br>4.70 ± 0.06 | 3.42 ± 0.74<br>6.40 ± 0.11** | 5<br>5 |

*Примечание:* M ± s.e. – среднее значение и его стандартная ошибка; различия достоверны при *p:* * – < 0.05, *** – <0.001, – по отношению к контролю (в пресной воде). Над чертой – в пресной воде, под чертой – после экспозиции в гиперосмотической среде. n – количество проб.

*Note:* M ± s.e. – mean value and standard error; differences are significant: *p:* * – <0.05; *** – <0.001. The date for fish in fresh water are given above the line; after exposition in hyperosmotic environment – under the line; n – number of fish.

**Таблица 3**. Физиологические и морфологические параметры почек стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 39 ± 0.6 см, масса 393 ± 10.3 г) в пресной воде и гиперосмотической среде солёностью 12.7 ‰ (409 мосм/л) в течение 168 часов. M ± s.e.

**Table 3.** Physiological and morphological parameters of kidneys of starlet *A. ruthenus* (age2+, length 39 ± 0.6 cm, weight 393 ± 10.3 g) in freshwater and hyperosmotic environment with salinity 12.7 ‰ (409 mosm/l) during 168 h. M ± s.e.

| Параметры<br>Parameters | В пресной воде<br>Control, in fresh | В морской воде<br>In sea water |
|---|---|---|
| Клубочковая фильтрация, мл/ч/100 г массы тела<br>Glomerular filtration, ml/h/100g body weight | 1.77 ± 0.11 | 1.18 ± 0.16 * |
| Реабсорбция воды, %<br>Reabsorbtion of water,% | 36.3 ± 2.1 | 50.8 ± 4.0 ** |
| Соотношение $U/P_{in}$<br>$U/P_{in}$ ratio | 1.60 ± 0.05 | 2.08 ± 0.18 * |
| Диурез, мл/час/100г массы тела<br>Diuresis, ml/h/100 g body weight | 1.13 ± 0.05 | 0.58 ± 0.09 *** |
| Диаметр гломерул, мкм<br>Diameter of glomeruli, μm | 103.7 ± 3.1 | 66.1 ± 3.3*** |
| Выведение $Na^+$, мэкв/л/час/100г массы тела<br>Removal $Na^+$, meq/L/h/100 g body weight | 19.44 ± 2.63 | 94.66 ± 3.50*** |

*Примечание*: M ± s.e. – среднее значение и его стандартная ошибка; различия достоверны при *p*: * – < 0.05, ** – < 0.01, *** – < 0.001 – по сравнению с контролем. Количество в контроле и в опыте по 5. $U/P_{in}$ – отношение содержания инулина в моче (U) и сыворотке (P).

*Note:* M ± s.e. – mean value and standard error; differences are significant: *p*: * – < 0.05, **– < 0.01, *** – < 0.001 – in comparison with control, the number of fish tested in control and experiment by 5; $U/P_{in}$ – the ratio between the urine inulin concentration (U) and blood serum inulin concentration (P).

**Морфофункциональное состояние хлоридных клеток.** *Пресная вода.* Хлоридные клетки стерляди, находящейся в пресной воде, характеризуются низкой электронной плотностью в связи с разреженным расположением органоидов в цитоплазме. Ядро занимает базальное положение. Бóльшая часть митохондрий располагается в центральной и апикальной частях клетки, где

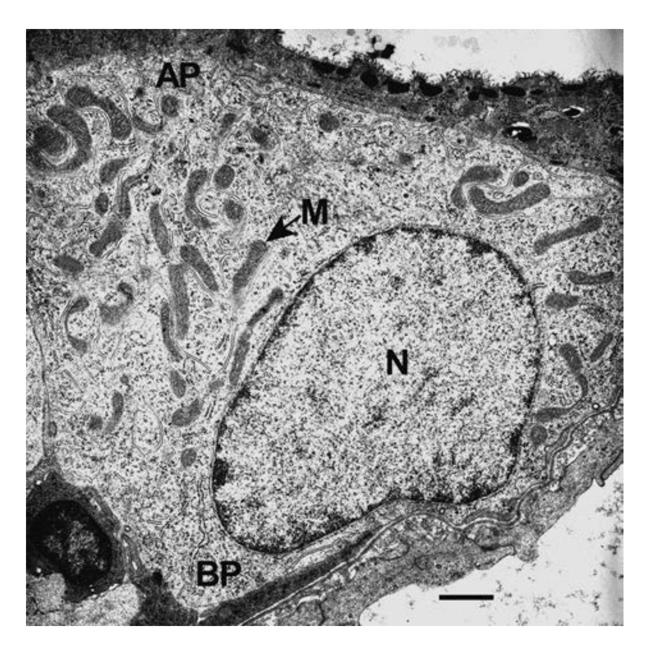



**Рис. 2.** Хлоридная клетка стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 39 ± 0.6 см, масса 393 ± 10.3 г), обитающей в пресной воде. N – ядро, AP – апикальная часть клетки, BP – базальная часть клетки, M – митохондрии. Увел. ×7000, масштаб 1.1 мкм.

**Fig. 2.** Chloride cell of sterlet *Acipenser ruthenus* (age 2+, length 39 ± 0.6 cm, weight 393 ± 10.3 g) dwelling in fresh water. N – nucleus, AP – apical part of the cell, BP – basal part of the cell, M – mitochondria. Magnification: ×7000, bar – 1.1 μm.

эти органоиды не имеют чёткой ориентации по отношению к базо-апикальной оси клетки, вследствие чего на срезах клетки митохондрии имеют различную форму: как удлинённую, так и округлую (Рис. 2). Кристы митохондрий располагаются плотно и имеют различную направленность. В базо-латеральных частях клетки митохондрии, как правило, встречаются редко. Трубочки гладкого эндоплазматического ретикулума (ГЭР) также не имеют плотного расположения в клетке, часть из них располагается вблизи митохондрий. В цитоплазме имеются скопления свободных рибосом.

*Гиперосмотическая среда солёностью 12.7‰ (409 мосм/л).* Хлоридные клетки стерляди после 7 суток обитания в гиперосмотической среде обнаруживают различные морфофункциональные состояния. Часть клеток обладает некоторыми чертами, характерными для экскреторного состояния. Они становятся оптически плотными в результате появления большого числа митохондрий, трубочек ГЭР и ШЭР (шероховатого эндоплазматического ретикулума), скоплений свободных рибосом (Рис. 3А). В апикальной части клеток заметно скопление мелких вакуолей, свидетельствующее о выведении хлоридов через апикальную мембрану хлоридной клетки. Вместе с тем в клетках только некоторые трубочки ГЭР имеют тесный контакт с митохондриями (Рис. 3В). Известно, что плотное прилегание трубочек ГЭР к митохондриям связано с передачей энергии, образующейся в результате гидролиза АТФ, локализованной на мембранах митохондрий, транспортному ферменту $Na^+/K^+$ АТФ-азе, локализованному на мембранах трубочек ГЭР, для транспорта избытка $Na^+$ из организма. В апикальной части клеток, в большей степени свободной от митохондрий и трубочек ретикулума, имеется тесный контакт с соседними клетками. Эта черта характерна для жаберного эпителия рыб, находящихся в пресной воде, тогда как у рыб, выполняющих гипоосмотическую регуляцию в морской среде, межклеточные пространства, напротив, широкие, так как именно по ним происходит выведение избытка $Na^+$ из организма. Наряду с вышеописанными клетками, в жаберном эпителии имеются клетки, тонкая структура которых демонстрирует черты дегенерации (Рис. 4). Имеются клетки с митохондриями округлой формы, характерной для этих органоидов при их набухании, а также клетки с разрушенными митохондриями. Можно полагать, что признаки дегенерации могут быть обусловлены высокой функциональной нагрузкой, не соответствующей экскреторным возможностям клеток.

**Концентрация кортизола в сыворотке крови.** У стерляди в течение первых трёх часов после перевода её из пресной воды в гиперосмотическую среду солёностью 12.7‰ (409 мосм/л) уровень кортизола в сыворотке крови увеличивается в 3.9 раза ($p < 0.01$). Этот уровень сохраняется ($p > 0.05$) в течение последующего времени опыта (Табл. 4). Высокое содержание кортизола в крови поддерживается двукратным выведением гормонов из интерреналовой железы, что подтверждается уменьшением площади клеток этой железы через 12 и 144 ч опыта, определённой на гистологических срезах (Табл. 4). Динамика кортизола в сыворотке крови позволяет предположить наличие у стерляди осмо-

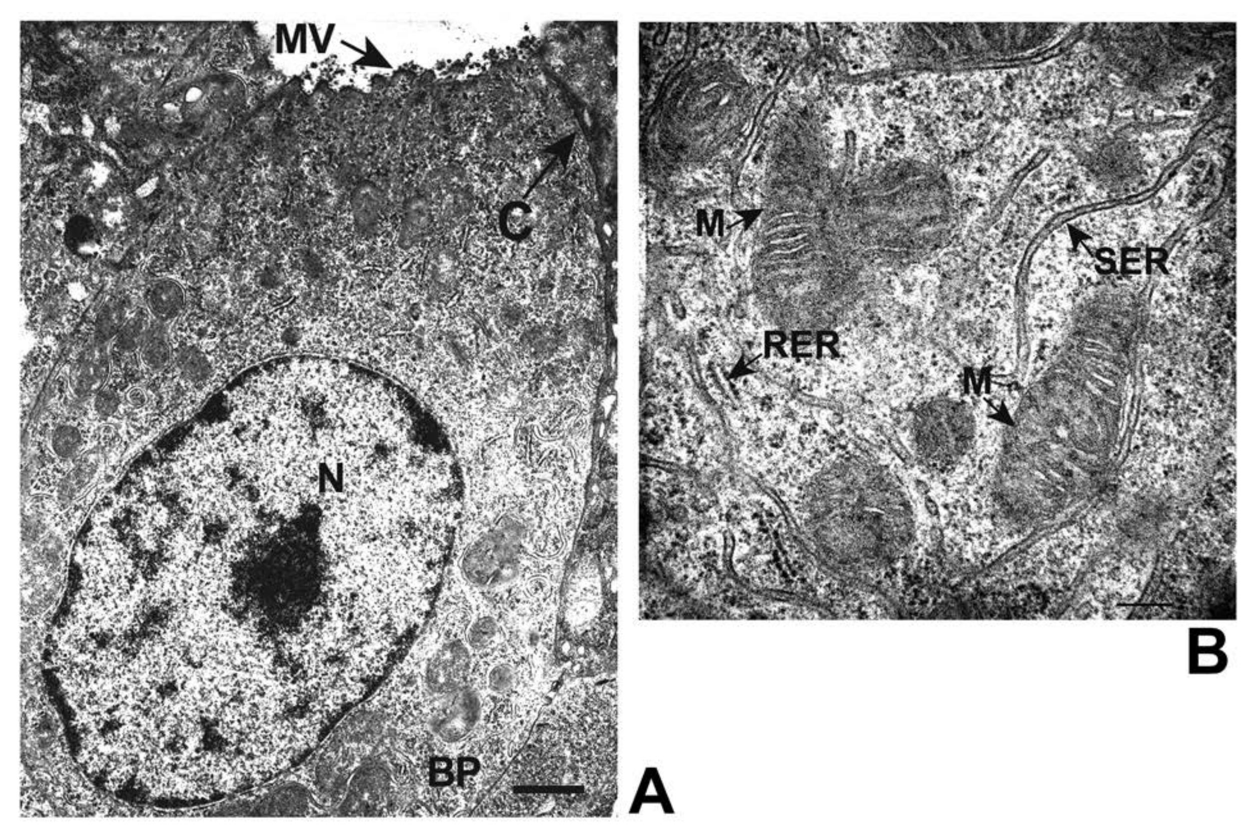



**Рис. 3.** Хлоридная клетка стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 39 ± 0.6 см, масса 393 ± 10.3 г), обитающей в гиперосмотической среде солёностью 12.5‰ в течение 7 сут. A – MV – микровиллы, C – контакт с соседними клетками; другие обозначения как на Рис. 2. Увел. ×7000, масштаб 1.1 мкм; B – центральная часть клетки: M – митохондрии, SER – трубочки гладкого эндоплазматического ретикулума, RER – трубочки шероховатого эндоплазматического ретикулума. Увел. ×30000, масштаб 0.25 мкм.

**Fig. 3.** Chloride cell of sterlet *Acipenser ruthenus* (age 2+, length 39 ± 0.6 cm, weight 393 ± 10.3 g) dwelling in hyperosmotic medium of 12.5‰ salinity during 7 days. A – MV –microvilli, C – contact with neighbouring cells; other designations as in Fig. 2. Magnification: ×7000, bar – 1.1 µm; B – central part of the cell: M – mitochondria, SER – tubules of rough endoplasmic reticulum, RER – fragment of rough endoplasmic reticulum. Magnification: ×30000, bar – 0.25 µm.

тического стресса, поскольку высокий уровень кортизола сохраняется в течение всего экспериментального периода (Wendelaar-Bonga 1993).

**Активность $Na^+/K^+$ АТФ-азы.** *Жабры*. При содержании молоди стерляди в гиперосмотической среде активность транспортного фермента $Na^+/K^+$ АТФ-азы в гомогенатах жабр уменьшается ($p < 0.05$), хотя через 12 ч опыта можно отметить тенденцию повышения активности этого фермента (Табл. 4). Снижение активности фермента почти в 4 раза ($p < 0.05$) на 7-е сутки воздействия гиперосмотической среды, по сравнению с его уровнем в контроле, свидетельствует о том, что хлоридные клетки не переходят в высоко активное экскреторное состояние, необходимое для выведения через жабры избытка одновалентных ионов из организма. Снижение активности транспортного фермента в жабрах у стерляди наблюдается при существенном увеличении концентрации кортизола в сыворотке крови (Табл. 4). Можно полагать, что у пресноводной стерляди рецепторная система хлоридных клеток для восприятия стимулирующего действия кортизола, обеспечивающего повышение активности $Na^+/K^+$ АТФ-азы, развита слабо.

Отсутствие повышения экскреторной активности хлоридных клеток жабр при воздействии гиперосмотической среды подтверждает результат количественной оценки содержания $Na^+$ непосредственно в самих хлоридных клетках, проведённой по протеин А-голд технике для электронно-микроскопических исследований

**Таблица 4.** Концентрация кортизола в сыворотке крови, активность $Na^+/K^+$ АТФ-азы в гомогенатах жабр и почек и площадь клеток интерреналовой железы в течение экспозиции стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 39 ± 0.6 см, масса 393 ± 0.3 г) в гиперосмотической среде солёностью 12.7 ‰ (409 мосм/л) в течение 168 ч. M ± s.e.

**Table 4.** Concentration of cortisol in the blood serum, $Na^+/K^+$ ATPase activity in homogenates of the gills and the kidneys and area of cells in interrenal gland during exposition of starlet *A. ruthenus* (age 2+ yr, length 39 ± 0.6 cm, weight 393 ± 10.3 g) in hyperosmotic medium with salinity 12.7 ‰ (409 mosm/l) during 168 h. M ± s.e.

| Период экспозиции, ч<br>Time of exposition, h | Концентрация кортизола, нг/мл<br>Concentration of cortisol, ng/ml | Площадь клеток интерреналовой железы, мкм $^2$<br>Area of cells, μm$^2$ | Активность $Na^+/K^+$ АТФ-азы, μмол $P_i$\|/ч$^{-1}$/мг белка$^{-1}$<br>$Na^+/K^+$ATPase activity, μmol $P_i$/h/mg protein | |
|---|---|---|---|---|
| | | | жабры/gills | почки/kidneys |
| Контроль, в пресной воде<br>Control, in fresh water | 19.29 ± 6.36 (5) | 292.8 ± 9.4 (5) | 15.0 ± 3.0 (3) | 45.0 ± 4.0 (4) |
| 3 | 75.13 ± 12.96**(5) | – | – | 29.0 ± 9.0 (4) |
| 12 | 66.54 ± 15.96*(3) | 229.3 ± 10.8(5)*** | 26.0 ± 8.0 (4) | – |
| 24 | | 300.1 ± 12.1(5)***-12 | – | – |
| 72 | | 367.5 ± 9.8(5) | – | – |
| 144 | | 324.4 ± 10.1(5)***-72 | – | – |
| 168 | 79.83 ± 10.90**(4) | – | 4.0 ± 2.0*,*-12 (5) | 22.0 ± 7.0* (4) |

*Примечание*: M ± s.e. – среднее значение и его стандартная ошибка; различия достоверны при *p*: * – <0.05; ** – <0.01, *** – <0.001 (без индекса – по сравнению с контролем, с индексом (12 и 72) – по сравнению с соответствующим периодом экспозиции); количество рыб в опыте указано в скобках.

*Note*: M ± s.e. – mean value and standard error; differences are significant: *p:* * – <0.05; ** – <0.01, *** – <0.001 (without index – in comparison with control, with index (12 and 72) – in comparison with corresponding period of exposition); in round brackets – the number of fish tested.

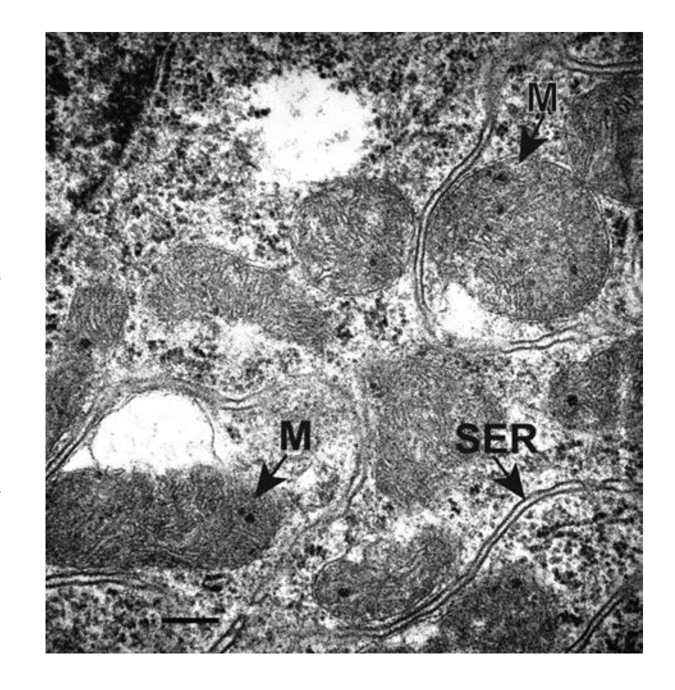



**Рис. 4.** Фрагмент хлоридной клетки стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 39 ± 0.6 см, масса 393 ± 10.3 г), имеющей признаки дегенерации тонкой структуры после обитания в гиперосмотической среде солёностью 10.5‰ в течение 5 суток и последующего обитания в солёности 12.5‰ в течение 7 суток. M – деформированные митохондрии, SER – трубочки гладкого эндоплазматического ретикулума. Увел. ×30000, масштаб 0.25 мкм.

**Fig. 4.** Fragment of chloride cells of starlet *Acipenser ruthenus* (age 2+, length 39 ± 0.6 cm, weight 393 ± 10.3 g) having the signs of degeneration in ultrastructure after dwelling in hyperosmotic medium of 10.5‰ during 5 days and subsequent dwelling in 12.5‰ salinity during 7 days. M – deformed mitochondria, SER – tubules of rough endoplasmic reticulum. Magnification: ×30000, bar – 0.25 μm.

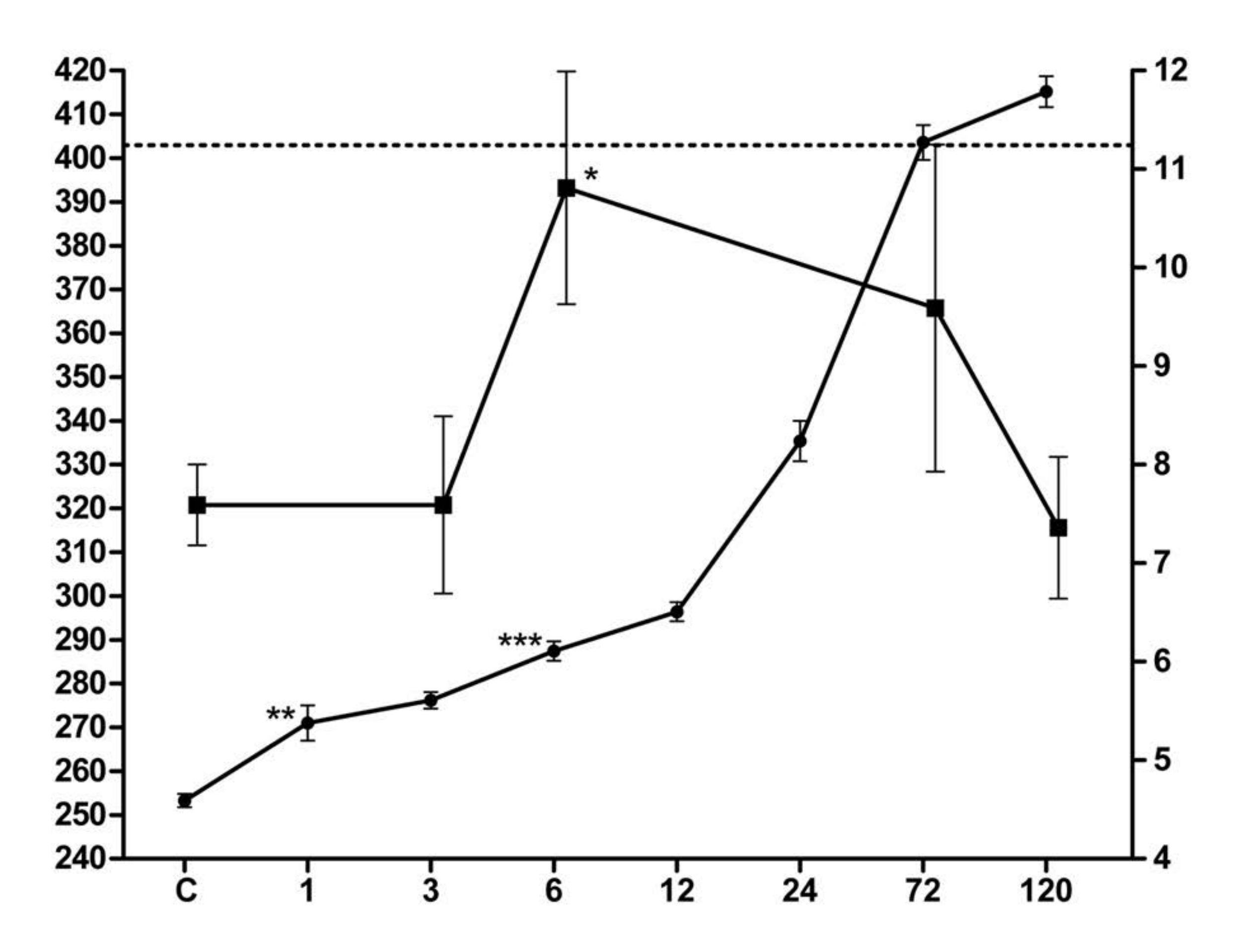



**Рис. 5.** Динамика осмолярности сыворотки крови и концентрации тироксина ($T_4$) в сыворотке крови стерляди *A. ruthenus* (возраст 2+, длина 49.6 ± 0.3 см, масса 493.2 ± 10.6 г) в течение воздействия гиперосмотической среды соленостью 12.5‰ (403 мосм/л); (•)– осмолярность; (■) – концентрация $T_4$; *вертикальные линии* (I) – стандартная ошибка для среднего значения концентрации $T_4$ и 95% доверительный интервал средней осмолярности; различия достоверны при $p$ * – < 0.05, ** – < 0.01, *** – < 0.001 – по сравнению с контролем – С (в пресной воде). По оси $x$ – длительность воздействия, ч; С – контроль (в пресной воде); по оси $y$ (левая) – осмолярность, мосм/л; $y$ (правая) – концентрация $T_4$, нмол/л.

**Fig. 5.** Dynamics of blood serum osmolarity (mosm/l) and thyroxin ($T_4$) concentration in the blood serum of sterlet *Acipenser ruthenus* (age 2+, length 49.6 ± 0.3 cm, weight 493.2 ± 10.6 g) during influence of hyperosmotic medium 12.5‰ salinity (403mosm/l); (■) osmolarity; (♦) – $T_4$; *vertical lines* (I): standard error for the mean value of the $T_4$ concentration and the 95% confidence interval for the mean of the osmolarity; differences are significant: $p$:* – < 0.05, ** – < 0.01, *** – < 0.001 – in comparison with control – C (in fresh water), $x$– period of influence of hyperosmotic medium, h; $y$ (left) – osmolarity, mosm/l; $y$ (right) – concentration of $T_4$.

(Roth et al. 1978). Подсчёт голд-меток в отдельных клетках показал, что среднее число голдметок, связанных с $Na^+$ в хлоридных клетках, у стерляди после 24 ч обитания в гиперосмотической среде солёностью 12.7‰ (409 мосм/л) достоверно не отличается ($p > 0.05$) от уровня аналогичного параметра контрольных рыб, находящихся в пресной воде (34.50 ± 12.15 против 11.55 ± 1.52 в контроле). Вместе с тем можно отметить тенденцию увеличения голд-меток в хлоридных клетках у стерляди при обитании её в гиперосмотической среде. Большой размах колебания среднего значения этого параметра у рыб после воздействия гиперосмотической среды свидетельствует о различиях в уровне экскреторной активности хлоридных клеток рыб.

*Почки*. У стерляди в пресной воде активность $Na^+/K^+$ АТФ-азы была больше, чем в жабрах ($p <$ 0.001), так же, как это наблюдается у костистых рыб. Действие фермента у рыб в пресной среде

направлено на обеспечение сорбции одновалентных ионов из мочи для предотвращения потери этих ионов и поддержания ионного баланса в организме (Табл. 4). Через 3 ч после перевода рыб в гиперосмотическую среду активность фермента остается на том же уровне, который отмечается у стерляди в пресноводных условиях. К концу опыта активность фермента существенно ($p < 0.05$) сокращается по сравнению с контролем, но она остаётся выше ($p < 0.05$), чем в жабрах (в 5.5 раза,) что даёт основание считать сохранение относительно высокой реабсорбционной способности почечных канальцев.

**Изменения функционального состояния щитовидной железы.** В течение первых 6 часов после перевода рыб в гиперосмотическую среду солёностью 12.7‰ (409 мосм/л) в сыворотке крови стерляди происходит увеличение ($p < 0.05$) концентрации тироксина, но в последующие 18 ч опыта происходит снижение содержания гормона, что можно было бы отнести к его потреблению органами-мишенями (Рис. 5). Вместе с тем после снижения концентрации тироксина осмолярность сыворотки крови продолжает увеличиваться. Таким образом, динамика концентрации тироксина в сыворотке крови у стерляди в период воздействия гиперосмотической среды не сопряжена с динамикой осмолярности сыворотки крови, что можно рассматривать как отсутствие использования энергетики организма для затрат на выведения избытка ионов против градиента концентрации этих ионов у рыб в гиперосмотической среде.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В гиперосмотической среде солёностью 12.5–12.7‰ (403–409 мосм/л) осмолярность сыворотки крови неполовозрелых особей стерляди повышается до уровня осмолярности среды обитания, который значительно выше (на 55%), чем была исходная осмолярность сыворотки крови у рыб в пресной воде. Этот показатель свидетельствует о значительной солевой толерантности стерляди, которой не обладает представитель пресноводных среднеазиатских эндемиков рода *Pseudoscaphirhynchus* – *P. kaufmanni* (Kessler, 1877). У Большого Амударьинского лопатоноса в солёности 10.5‰ (338.3 мосм/л) уровень осмолярности сыворотки крови увеличивается до осмолярности среды через 24 ч экспозиции и не изменяется в последующие 144 ч опыта. В более высокой солёности 12.5‰ (403 мосм/л) осмолярность сыворотки крови этого вида становится изоосмотичной среде также через 24 ч, но по достижении этого уровня лопатонос погибает (Краюшкина и Моисеенко [Krayushkina and Moiseenko] 1977a, b).

Динамика кортизола в сыворотке крови стерляди показывает, что этот вид испытывает существенный осмотический стресс, поскольку высокий уровень кортизола сохраняется в течение всего экспериментального периода после перевода рыб в солоноватую воду. Известно, что кортизол признан важным стрессорным гормоном, наряду с другими его ролями в жизни рыб. Эта функция кортизола может иметь прямое отношение к обстоятельству, когда стрессорные стимулы вызывают напряжение в активности осморегуляторного механизма (Wendelaar-Bonga 1993). У эвригалинных костистых рыб, которые успешно адаптируются к морской воде в естественных условиях, уровень кортизола увеличивается после перевода рыб в морскую воду в экспериментальных условиях, но после некоторого времени он возвращается к первоначальному уровню (Forrest et al. 1973). Содержание кортизола в сыворотке крови у русского осетра и севрюги после 7 сут. экспозиции в солоноватой воде 12.7‰ также достоверно не отличались ($p > 0.05$) от значений этого параметра у рыб в контроле (в пресной воде). Вместе с тем содержание севрюги в течение 7 сут. в более высокой солёности 18‰ (580 мосм/л) вызывает повышение содержания кортизола в крови в 3 раза (по сравнению с уровнем этого гормона у севрюги при адаптации к солёности 12.5‰), что свидетельствует о появлении напряжения её осморегуляторной системы в этих условиях. В сыворотке крови русского осетра уменьшение уровня гормона в течение первых 12 ч адаптации, т. е. в период функционального напряжения осморегуляторной системы при переходе рыб в это время к гипоосмотической регуляции, можно связать с эффективной утилизацией гормона органами-мишенями (Krayushkina et al. 2006). Сохранение уровня кортизола в крови отмечается и у эвригалинного адриатического осетра (*A. naccarii* Bonaparte, 1836) при адаптации к морской воде солёностью 35‰ (Martines–Álvarez

et al. 2002). Из этого можно заключить, что относительное постоянство уровня кортизола при изменении солености среды является индикатором успешной адаптации рыб к этим условиям.

У костистых рыб, поддерживающих осмотический гомеостаз, кортизол стимулирует повышение активности фермента $Na^+/K^+$ АТФ азы в жабрах, необходимое для транспорта $Na^+$ против градиента концентрации этого иона в среде, т. е. для выведения избытка этого катиона из организма. Такое повышение (в 13 раз) фермента наблюдается в гомогенатах жабр у севрюги при её адаптации к гиперосмотической среде солёностью 12.5‰ (Krayushkina et al. 2006). В настоящем исследовании у осмоконформера стерляди высокий уровень кортизола не приводит к повышению активности транспортного фермента $Na^+/K^+$ АТФазы и морфофункциональной перестройке структуры хлоридых клеток в экскреторное состояние.

Щитовидная железа на воздействие гиперосмотической среды отвечает увеличением концентрации тироксина ($T_4$) в сыворотке крови в течение 3–6 ч солевого воздействия, но в дальнейшие 114 ч происходит снижение концентрации гормона до исходного уровня (в контроле). У анадромного вида осетровых (севрюги), напротив, в течение 6–72 ч адаптации к гиперосмотической среды происходит уменьшение концентрации $T_4$ в сыворотке крови, что, вероятно, связано с потреблением гормона органами-мишенями и включением его в осморегуляторной процесс. В дальнейшие часы адаптации у этого вида происходит восстановление уровня $T_4$ до исходного значения (Krayushkina et al. 2015). В нашем опыте динамика концентрации тироксина в сыворотке крови не сопряжена с динамикой осмолярности сыворотки крови у стерляди. Повышение гормона в крови в ответ на солевое воздействие, видимо, является проявлением стрессорной реакции на солевое воздействие организма и не связано с адаптационным процессом, поскольку отсутствует необходимая рецепторная связь между органами, принимающими участие в осмотической регуляции.

Таким образом, повышение концентрации кортизола и $T_4$ в сыворотке крови в результате активации интерреналовой и щитовидной желез следует рассматривать как стрессорные реакции, которые не связаны с адаптационным процессом поддержания осмотического гомеостаза у стерляди как осмоконформера. Эти реакции не приводят к функциональной стимуляции активности транспортного фермента $Na^+/K^+$ АТФ азы в жабрах и к перестройке тонкой структуры хлоридных клеток жабр для выполнения экскреторной функции по регуляции баланса $Na^+$ в организме. Можно заключить, что между эффекторным «органом», каким является совокупность многочисленных хлоридных клеток жаберного эпителия, и эндокринными железами (интерреналовая и щитовидная), находящимися под контролем тропных гормонов гипофиза, не сформирована функциональная связь.

Вместе с тем очевидно, что у стерляди выработана определённая стратегия для поддержания изоосмолярности сыворотки крови в солоноватой воде, в которой почка играет существенную роль в выведении избытка $Na^+$ в организме. Высокая концентрация $Na^+$ в моче (163.2 ± 5.3 мэкв/л), близкая к концентрации этого катиона в гипоосмотической среде, высокая доля $Na^+$ (87.1 ± 0.1%) в суммарной концентрации основных катионов в моче, низкий уровень сорбции воды (50.8 ± 4.0%) в почечных канальцах, высокий диурез (0.58 ± 0.09 мл/час/100г массы тела) обусловливают высокий уровень выведения $Na^+$ с мочой (100.95 ± 13.21 мэкв/мл/час/100 г массы тела).

Анализ реакции осморегуляторной системы стерляди на воздействие гиперосмотической среды даёт возможность предположить исходную стратегию в функциональной эволюции механизма осмотического гомеостаза у осетровых на начальных этапах освоения ими морских ареалов при их переходе к анадромии. Особенностью этой стратегии является способность осетровых использовать почку для выведения избытка $Na^+$ (и $Cl^-$) и тем самым поддерживать изоосмотичность сыворотки крови по отношению к гиперосмотической (солоноватоводной) среде. Высокая морфофункциональная пластичность осетровых способствовала выработке у них значительной солевой толерантности. При освоении более солёных вод эволюция осморегуляторной системы шла по пути увеличения роли жабр (хлоридных клеток) в выведении одновалентных ионов и усилении роли почки и кишечника в выведении двухвалентных ионов (Krayushkina 2006).

## ЛИТЕРАТУРА


**Bakhteeva V.T. and Natochin Yu.V. 1976**. Research method of water-salt metabolism and functions of fish kidneys. Standard methods for studies of productivity of fish species within the limit of their areas. Mokslas, Vilnius, part 2: 110–122. [In Russian].

**Belogurov A.Ya. 1937**. To question about the distribution of sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) in North part of Caspian Sea. *Scientific Proceedings of Moscow University,* **9**: 87–91. [In Russian].

**Borzenko M.P. 1951**. Distribution and grow of starlet in Caspian Sea. *Journal of Fish Industry,* **2**: 44. [In Russian].

**Bruevich S.V. 1937**. Hydrochemistry of the Middle and Southern Caspian Sea. USSR Academy of Sciences, Moscow, 350 p. [In Russian].

**Echmeyer W.N. 2019**. Catalog of Fishes. Available from: http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp on-line (accessed 3 December 2019)

**Forrest J.N., MacKay W.C., Gallagher B. and Epatein F.H. 1973**. Plasma cortisol response to seawater adaptation in the American eel, *Anguilla rostrata*. *American Journal of Physiology,* **224**(3): 714–717. https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1973.224.3.714

**Karnovsky M.J. 1965**. A formaldehyde-glutaraldehyde fixatative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology,* **27**: 137–138.

**Krayushkina L.S. 1998.** Characteristics of osmotic and ionic regulation in marine diadromous surgeon *Acipenser brevirostrum* and *A. oxyrhynchus* (Acipenseridae). *Journal of Ichthyology,* **38**(8): 660–668.

**Krayushkina L.S. 2006.** Considerations on evolutionary mechanisms of osmotic and ionic regulation in Acipenseridae: an overview. *Journal of Applied Ichthyology*, **22**(suppl. 1): 70–77. https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2007.00931.x

**Krayushkina L.S. and Moiseenko S.N. 1977a.** Functional peculiarities of osmoregulation in ecologically different species of acipenserids (fam. Acipenseridae) in hypertonic medium. *Voprosy Ikhtiologii*, **17**(3): 503–509. [In Russian].

**Krayushkina L.S. and Moiseenko S.N. 1977b.** Reaction of freshwater acipenserids forms – Baikalian sturgeon and big Amu-dar shovelnose on the change of environment salinity. *Reports of the USSR Academy of Sciences,* **232**(2): 496–499. [In Russian].

**Krayushkina L.S. and Semenova J.G. 2006.** Osmotic and ion regulation in different species of acipenserids (Acipenseriformes, Acipenseridae). *Journal of Ichthyology*, **46**(1): 108–119. https://doi.org/10.1134/s0032945206010139

**Krayushkina L.S., Semenova O.G. and Pritvorova A.V. 2016.** Reaction of osmoregulatory system in juveniles of Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseridae) on influence of somatotropin of carp *Cyprinus carpio*. *Journal of Ichthyology,* **56**(5): 775–782. https://doi.org/10.1134/s0032945216050052

**Krayushkina L.S., Semenova O.G. and Vyushina A.V. 2006**. Level of serum cortisol and $Na^+/K^+$ ATPase activity of gills and kidneys in different acipenserids. *Journal of Applied Ichthyology*, **22** (Suppl. 1): 182–187. https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2007.00948.x

**Krayushkina L.S., Semenova O.G. Vyushina A.V. and Gerasimov A.A. 2015**. Morphofunctional remodelling of the osmoregulatory system in starred sturgeon *Acipenser stellatus* (Acipenerseridae) during transition from hyperosmotic to hypoosmotic regulation. *Journal of Ichthyology,* **55**(2): 259–272. https://doi.org/10.1134/S0032945215020101

**Lukin A.V. 1947**. Principal features of ecology of acipenserids from Middle Volga. *Proceedings of Natural History Society of Kazan' University,* **7**(3–4): 39–143. [In Russian].

**Martines-Álvarez R.M., Hidalgo M.C., Domezain A., Morales A.E., Garcia-Gallego M. and Sanz A. 2002**. Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. *Journal of Experimental Biology,* **205**: 3699–3706.

**Pakhomova F.S. and Zatuchyaya B.M. 1966.** Hydrochemistry of the Caspian Sea. Gidrometezdat, Leningrad, 323 p. [In Russian].

**Reynolds E.S. 1963**. The use of lead citrate at high pH bas an electron-opaque stain in electron microscope. *Journal of Cell Biology,* **17**: 208–212. https://doi.org/10.1083/jcb.17.1.208

**Romeis B. 1953**. Microscopic technique. (Sokolov I.I., ed.). Foreign Literature Publishers, Moscow, 718 p. [In Russian].

**Roth J., Bendayan M. and Orci L. 2007**. Ultrastructural localization of intercellular antigens by the use of prolactin A-gold complex. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry,* **26**: 1074–1081. https://doi.org/10.1177/26.12.366014

**Sadov I.A. 1957**. Changes of nucleus sizes during period of growth and maturation of ovocytes in sturgeon, starred sturgeon and sterlet. *Doklady of the USSR Academy of Sciences,* **112**(2): 359–362. [In Russian].

**Semenkova T.B., Barannikova I.A., Kime D.E., McAllister B.G., Bayunova L.V., Dyubin V.P. and Kolmakov N.N. 2002**. Sex steroid profiles in female and male stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) during final maturation induced by hormonal treatment. *Journal of Applied Ichthyology,* **18**: 375–381. https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2002.00368.x

**Semenova O.G., Pritvorova A.V. and Krayushkina L.S. 2018.** Changes of somatotropin concentration in blood serum of juvenile Russian sturgeon *Acipenser gueldens-*

*taedtii* (Acipenseriformes) during adaptation to hyperosmotic medium. *Journal of Ichthyology,* **58**(2): 265–268. https://doi.org/10.1134/S0032945218020133

**Sokolov L.I. and Tsepkin E.A. 1971**. Sterlet *Acipenser ruthenus* L. in Middle and Lite Holotcene. *Bulletin of Moscow Natural History Society,* **76**(3): 137–145. [In Russian].

**Urbakh V.Yu. 1964**. Biometrical methods. Science, Moscow, 415 p. [In Russian].

**Wendelaar-Bonga S.E. 1993**. Endocrinology. In: D.H. Evans (Ed.). The physiology of fishes. London, Tokyo, CRC Press: 469–502.

**Zaugg W.S. 1982.** A Simplified Preparation for Adenosine Triphosphatase Determination in Gill Tissue. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences,* **39**: 215–217. https://doi.org/10.1139/f82-027

*Представлена 3 декабря 2019; принята 16 декабря 2019*